Lane Medical Library

Aus dem Institut für tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Universität Gießen
(Direktor: Professor Dr. Standfuß).

STANFORD UNIV. JUL 25 1939 LIBRARY

1938

Ueber die Eignung der Hottinger-Stierhodenbrühe nach Hohn und Herrmann zum Indolnachweis und über die Hemmung des Indolnachweises durch Kohlehydrate

---

Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
veterinär-medizinischen Fakultät
der
Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von
Erich Wernet
approbierter Tierarzt aus Völklingen/Saar

Gießen 1938

VERLAG RUDOLPH PFAU, BERLIN NW. 7, LUISENSTR. 21

Gedruckt mit Genehmigung
der
veterinär-medizinischen Fakultät zu Gießen

---

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Standfuß
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Beller

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Einleitung 5

II. Schrifttum:

1. Geschichte und Chemie des Indolnachweises 6
2. Empfindlichkeit des Indolnachweises 8
3. Beurteilung der verschiedenen Nährböden und Reagentien zum Indolnachweis im Schrifttum 9

III. Versuchsanordnung und Arbeitsweise:

Versuchsreihe A 12
Versuchsreihe B 14

IV. Versuchsergebnisse:

Versuchsreihe A:

1. Indolnachweis bei Intermediusstämmen 14
2. Indolnachweis bei Kolibakterien 23
3. Indolnachweis bei Proteusbakterien 28
4. Indolnachweis bei Bakterien der haemorrhagischen Septikaemie 30

Graphische Darstellungen 32

Versuchsreihe B:

Indolnachweis in Kohlehydrate-Stierhodennährböden 35

V. Schlußsätze 41

VI. Schrifttumverzeichnis 43

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154004_0308

I. Einleitung.

Vieles ist schon über die verschiedenen Reagentien und Nährböden für den Indolnachweis geschrieben worden. Neuerdings empfehlen Hohn und Herrmann die zuckerfreie Hottinger-Stierhodenbrühe für die Züchtung und biochemische Leistungsprüfung der Bakterien der Paratyphus-Enteritis-Gruppe. Nachdem diese an Aminosäuren und Tryptophan besonders reiche Brühe sich als ausgezeichneter Nährboden für diese Zwecke erwiesen hat, erschien die Anregung von Hohn und Herrmann, sie auch zur Indolprüfung zu verwenden, sehr wertvoll, da sie eine Vereinfachung der sonst gebräuchlichen Sondernährböden zur Indolreaktion bedeutet.

Außerdem wurde daran gedacht, ob nicht eines der Kohlehydratröhrchen in der bunten Reihe für den Indolnachweis benutzt werden könnte, so daß dadurch die Ersparung eines Röhrchens erreicht würde.

II. Schrifttum.

1. Geschichte und Chemie des Indolnachweises.

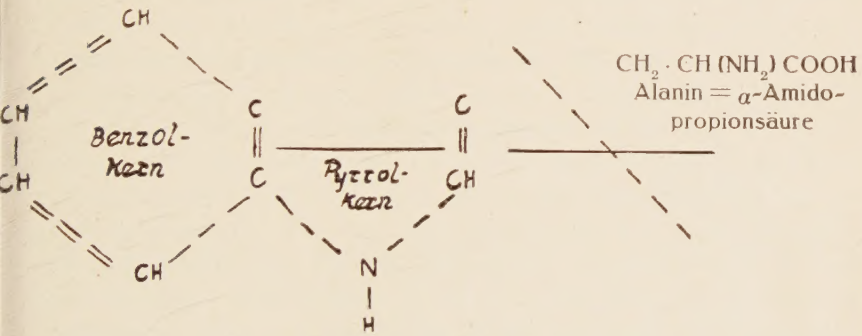
Die Kenntnis einer Indolbildung durch Bakterien geht bis in die achtziger Jahre zurück, in die ersten Blütejahre der Bakteriologie. Das Indol ist ein Eiweißabbaustoff, der beim Wachstum mancher Bakterienarten gebildet wird, wenn sie in Nährböden gezüchtet werden, die Pepton oder andere Vorstufen des Indols enthalten. Dieses Indol gibt in starker Verdünnung auf Zusatz von Nitrit und Mineralsäure einen roten bis rotvioletten Farbstoff, das sogenannte Nitrosindol. Wenn die zu prüfende Bakterienart aus stickstoffhaltigen Stoffen des Nährbodens auch Nitrit zu bilden vermögen, so tritt die Reaktion schon auf Zusatz von Salzsäure oder Schwefelsäure allein auf. Hierauf beruhte die von Poehl, Bujwid und Dunham eingeführte „Cholerarotreaktion", mit deren Hilfe man echte Cholerabakterien von anderen unterscheiden zu können glaubte. Dann aber merkte man, daß es nicht genügt, wenn Nitrit entweder im Nährboden vorhanden ist oder zugesetzt wird, sondern daß es darauf ankommt, daß ganz bestimmte optimale Nitritmengen vorhanden sein müssen, da ein Ueberschuß an Nitrit die Reaktion ebenso sehr hemmt wie nicht ausreichende Nitritmengen. Als man außerdem bald sah, daß Schwefelsäure in konzentriertem Zustande leicht Nebenfarben gibt, und daß der Indolnachweis oft erst nach mehreren Tagen gelingt, war es erklärlich, daß man von dieser Reaktion immer weiter abrückte. Es fehlte zwar nicht an Versuchen, die auf eine Erzielung einer Verschärfung der Reaktion und auf die Verbesserung der Nachweisverfahren hinausliefen, aber keines der Verfahren hat eine praktische Bedeutung erlangt. Einige der zahlreichen Versuche seien hier wiedergegeben:

Weyl und Legal benutzten die Kreatininreaktion mittels Nitroprussidnatrium; Crisafulli die rote Fichtenspan-Salzsäurereaktion, Pittaluga empfahl die Oxalsäureprobe; de Graafs Methode gründete sich darauf, daß sich Indol mit β-naphthochinonmonosulfosaurem Kalium in alkalischer Lösung zu einem blaugründunkelblauen Farbstoff kondensiert, der in Chloroform mit roter Farbe löslich ist.

Es seien auch noch genannt: Die Rot-Orange-Reaktion mit Vanillin nach Steensma, Nonotte, Demanche und Buard; die Gelbfärbung mit Zimtsäurealdehyd nach Denizès und die Rotreaktion mit Formaldehyd nach Konto und Sicre.

Trotzdem alle diese Veröffentlichungen und Untersuchungen heute nur noch geschichtlichen Wert besitzen, ist es doch bemerkenswert, daß alle genannten Autoren darin übereinstimmen, daß die Anwesenheit von Pepton im Nährboden für die Indolbildung unbedingt notwendig ist.

Die Erklärung dieser Tatsache blieb das Verdienst neuerer Forschungen. Durch hydrolytische Spaltung, z. B. durch die Lebenstätigkeit der Bakterien, kann nämlich das Peptonmolekül in seine Bausteine zerlegt werden, von denen der hier wichtigste das Tryptophan oder Indolalanin ist. Es ergibt sich folgendes chemische Bild:



Benzopyrrolkern = Indolkern.

Das Indolalanin besteht aus zwei Hauptbestandteilen. Auf der einen Seite der Alaninkette und auf der anderen Seite dem Benzopyrrolkern = Indolkern. Die indolbildenden Bakterien besitzen nun im Gegensatz zu den nicht indolbildenden die Fähigkeit, aus dem Indolalanin (Tryptophan) die Alaninkette abzuspalten und so den Indolkern freizulegen. Dieser kann nunmehr mit chemischen Reagentien nachgewiesen werden.

Auf dieser Erkenntnis baute Ehrlich (1) im Jahre 1900 sein neues Indolreagens auf. Im Anfang zur Harnuntersuchung bestimmt, wurde es sehr bald von ihm für die Indolreaktion bei Bak-

terien angewandt. Es war das Paradimethylamidobenzaldehyd. Ehrlich nahm sehr richtig an, daß das Paradimethylamidobenzaldehyd, wie die meisten Aldehyde, die Fähigkeit besitzt, sich mit Indol bei gleichzeitiger Anwendung eines Oxydationsmittels zu einem intensiv roten Farbstoff, einem Rosindol zu verbinden, das sich in Alkohol löst. Er löste darum das Paradimethylamidobenzaldehyd in Salzsäure und 96%igem Alkohol mit gleichzeitiger Anwendung gesättigter Kaliumpersulfatlösung als Oxydationsmittel. Diese Reaktion hielt in der Folgezeit zahlreichen Nachprüfungen stand, und ist auch heute noch die durchaus zuverlässigste zum Indolnachweis.

E. Pringsheim gab dem Ehrlichschen Reagens, nachdem Tobey fand, daß Kaliumpersulfat als besonderes Oxydationsmittel entbehrlich sei, folgende Zusammensetzung:

Paradimethylamidobenzaldehyd	5,0
Methylalkohol	50,0
Salzsäure	40,0

Kovács verwandte statt des Methylalkohols den Amylalkohol in diesem Verhältnis:

Paradimethylamidobenzaldehyd	5,0
Amylalkohol	75,0
Salzsäure	25,0

Diese Mischung hat den Vorzug, daß der Amylalkohol sich nicht mit der Nährflüssigkeit mischt und dadurch die Farbreaktion sozusagen in konzentrierter Form in dem reinen Alkohol sehr deutlich in Erscheinung treten läßt, während bei Verwendung des Pringsheim-Reagens der Farbstoff sich dem ganzen Kulturröhrchen mitteilt und dadurch etwas abgeschwächt wird.

In letzter Zeit versuchte Hoffmann (6), den Amylalkohol durch Butanol (Butylalkohol) zu ersetzen.

2. *Empfindlichkeit des Indolnachweises.*

So wichtig das Tryptophan für die Indolbildung ist, ebenso unerläßlich ist auch die Anwesenheit von Sauerstoff. Porcher und Pannisset (15) stellten eine bedeutend geringere Indolbildung bei luftdicht verschlossenen Röhrchen fest, gegenüber den nicht vom Luftzutritt abgeschlossenen Vergleichsröhrchen. Auch beeinflussen kleinste Nitritmengen oder eine Steigerung der Aldehyd-

konzentration die Indolbildung ungünstig. Schädlich wirkt fernerhin die Anwesenheit von gewissen Zuckerarten im Nährboden. Gorini, Peckham, Seelig, Smith und A. Fischer berichten, daß die Anwesenheit von Traubenzucker in der Nährlösung die Indolbildung schon in der Verdünnung von 0,2% hindert. Bienstock und A. Fischer fanden, daß andere Zuckerarten, z. B. Milchzucker, die Indolbildung wenig oder gar nicht hemmen. T. Glenn (3) führt Versuche an, in denen er feststellt, daß Indolbildung nur bei Anwesenheit von Peptonlösung, Glycerin, Laktose und Stärke stattfindet, wogegen Saccharose und Dextrose die Indolbildung hindern. Kruse (11) erklärte, diese Verschiedenheiten seien darauf zurückzuführen, daß bei der Vergärung des Traubenzuckers Säure entstehe, die die hemmende Wirkung verursache. Distaso, Homer und Logie sprechen dieser Säure aber die genannte Eigenschaft ab, da ja selbst bei stark saurer Reaktion das Indol noch nachträglich erscheine, wenn sämtlicher Traubenzucker verbraucht sei, und andererseits bereits fertig gebildetes Indol durch Traubenzuckerzusatz wieder verschwinde. Neisser und Frieber (13) erklären die hemmende Wirkung bei der Indolbildung in Anwesenheit von Zucker im Nährboden damit, daß nur spaltbarer Zucker stört und infolgedessen Glukose, die von allen indolbildenden Bakterien angegriffen wird, keine Indolbildung zuläßt.

3. *Beurteilung der verschiedenen Nährböden und Reagentien zum Indolnachweis im Schrifttum.*

Zahlreich sind die vorhandenen Reagentien und Nährböden und zahlreich sind auch die Ansichten der einzelnen Forscher über ihren Wert und ihre Brauchbarkeit. Spitta (17) benutzt mit gutem Erfolg Friebers Trypsinbouillon mit dem abgeänderten Ehrlich-Böhmschen Reagens nach Pringsheim (5%ige Aldehydlösung mit Kaliumpersulfat) und nach Zipfel (getrennter Zusatz von 2%iger Aldehydlösung und Salzsäure). Standfuß und Lehr (18) arbeiten mit Zipfels Verfahren in der Abänderung nach Abel-Olsen (Tryptophanlösung von Zipfel mit der Ehrlich-Böhmschen Aldehydlösung). Neisser und Frieber (13) sprechen dagegen der Zipfelschen Nährlösung eine unbedingte Zuverlässigkeit ab. Sie benutzen mit gutem Erfolg die Trypsinbouillon nach Neisser und Pringsheim mit dem Prings-

heimschen Indolreagens. Das Pringsheimsche Reagens wurde bei der im Jahre 1929 unter Führung des Reichsgesundheitsamtes in die Wege geleiteten Paratyphussammelforschung als maßgebliches Verfahren angewandt, und wurde auch in die amtlichen Vorschriften über die bakteriologische Fleischuntersuchung aufgenommen (Verordnung des Reichsministers des Innern zur Aenderung der Ausführungsbestimmungen A zum Reichsfleischbeschaugesetz vom 7. November 1935, Anlage 4). Die Ansichten über die Kovács'sche Methode sind auch nicht einheitlich. Während Kovács (10) selbst bei Verwendung gewöhnlicher Bouillon gute Ergebnisse anführt, spricht andererseits Lehr (12) dieser Methode eine Verläßlichkeit bei schwachen Indolbildern nach Züchtung in gewöhnlicher Pepton-Fleischbrühe ab. Thoemke (19) gibt der Kovács'schen Methode wieder den Vorzug vor der Zipfelschen. Ebenso bezeichnet Herrmann (5) das Kovács'sche Reagens als sehr brauchbar und überlegen, besonders dem Nitroprussidnatrium gegenüber. Er konnte durch das Kovács'sche Reagens reines Indol noch in einer Verdünnung 1 : 9 Mill. einwandfrei nachweisen, während das Nitroprussidnatrium Indol nur bis zu der Verdünnung 1 : 2 Mill. anzeigte. Hohn und Herrmann (7) empfehlen die aus Stierhoden gewonnene Hottingerbrühe, die einerseits vollkommen zuckerfrei, andererseits reich an Aminosäuren und Tryptophan ist. Als Reagens benutzten sie das von Kovács, von dem nach 20 Stunden 1 ccm eingefüllt wird. Sie sehen diese Methode als die schärfste an. Die Herstellungsvorschrift der Stierhodenbrühe ist folgende:

1. Die Hoden werden vom Samenstrang und den bindegewebigen Häuten befreit.
2. Das gesamte Rohmaterial wird gewogen.
3. Für 2 Pfd. Hoden werden 1½ Liter Wasser abgemessen und die Wassermenge zum Kochen gebracht. Auf 1 Pfd. Hoden kommen 750 ccm Wasser; wir bezeichnen diese Menge als eine Portion Hottingerbrühe.
4. Jeder Hoden wird der Länge nach in 4 Teile geschnitten und diese werden in das kochende Wasser gegeben.
5. Das Ganze wird 10 Minuten lang gekocht.
6. Die koagulierten Hoden werden mit dem Schaumlöffel herausgeholt und durch die Fleischmaschine gedreht.

7. Die durchgedrehte Hodenmasse wird gewogen.
8. Unterdessen Abkühlen der Brühe im Spülstein auf 40 Grad.
9. Die durchgedrehte abgewogene Hodenmasse wird durch das ursprüngliche Gewicht in Pfunden geteilt: z. B. Ursprungsgewicht 9 Pfund, nach dem Mahlen = 1710 g, dann 1710 : 9 = 190 g Hoden.
10. Auf diese 190 g Hoden kommen 750 ccm Brühe = 1 Portion. Die Portionen werden je nach der Größe der vorhandenen Flaschen zu 1, 2 oder 3 eingefüllt. Die Flaschen müssen außerdem genügend Schüttelraum haben.
11. Gute Alkalisierung gegen Lackmuspapier mit n-Sodalösung. Die Reaktion geht bei der Verdauung meist etwas zurück.
12. Je Portion ½ Teelöffel Pankreatin zugeben.
13. Je Portion 15 ccm Chloroform. Gut durchschütteln.
14. Die Flaschen kommen für 2 Tage in den Brutschrank und werden mehrmals täglich geschüttelt. Die Hoden müssen gut verdaut sein. Schlammsediment.
15. Reaktion wird am 2. Tage geprüft. Meist muß nochmals n-Sodalösung zu jeder Flasche gegeben werden
16. Am 3. Tage ist der Verdauungsprozeß meist abgeschlossen. Die Verdauung wird nun völlig unterbrochen durch Zufügen von reiner HCl bis zur Rötung von Lackmuspapier,

Die Herstellung der Hottingerbrühe gestaltet sich nun sehr einfach:

1. Zu 200 ccm Hottingerbrühe nach Durchschütteln der Flasche kommen 400 ccm Wasser.
2. 20 Minuten Einstellen in den Dampftopf zur Vertreibung des Chloroforms und zur besseren Filtration später.
3. Filtrieren und Auffüllen auf 1 Liter mit Wasser.
4. Hinzufügen von 1 g Kaliumphosphat (K_2HPO_4) und 20 ccm konzentrierter NaCl-Lösung.
5. Alkalisieren. Einstellen auf pH 7,6. Nachsterilisieren.

Diese Bouillon dient als Grundlage zur Vergärung. Die verschiedenen Zuckerarten werden 1%ig zugesetzt. Als Indikator wird 0,5 v. H. einer 0,5%igen alkoholischen Bromthymolblaulösung hinzugefügt. Zur Prüfung der Gasbildung kommt in jedes Reagensglas ein Gärröhrchen. Bebrütungszeit bei Stierhodenbouillon 2 Tage.

III. Versuchsanordnung und Arbeitsweise

Versuchsreihe A.

Es wurde vergleichend die Hottinger-Stierhodenbrühe nach Hohn und Herrmann und die Trypsinbouillon nach Neisser und Pringsheim geprüft. Hierbei kam es vor allem auf Schnelligkeit, Genauigkeit und Sicherheit des Indolnachweises in beiden Nährböden an. Als Reagentien wurden angewandt das Reagens von Pringsheim, das Kovács'sche Reagens, und eine Abänderung des letzteren nach Hoffmann, in der der Amylalkohol durch Butanol ersetzt ist.

Die Versuchsröhrchen enthielten 5 ccm Hottinger Stierhodenbrühe bezw. Neisser-Pringsheimsche Trypsinbouillon. Die Beimpfung geschah folgendermaßen: Die Spur einer Oese indolbildender Stämme wurde in 10 ccm steriler, auf 37° angewärmter physiologischer Kochsalzlösung gelöst und diese beimpften Kochsalzröhrchen 15 Minuten in den Brutschrank gebracht, um vermöge der Beweglichkeit der Bakterien eine unbedingt gleichmäßige Verteilung innerhalb der Aufschwemmungsflüssigkeit zu erzielen. Danach wurde eine Oese der Aufschwemmung in jedes Versuchsröhrchen gebracht und zum Vergleich eine Oese auf einer Agarplatte ausgetupft und mit der Kuppe eines sterilen Glasröhrchens verstrichen. Diese Agarplatte diente dem Zweck, die tatsächlich erfolgte Beimpfung des Indolröhrchens und die Reinheit der überimpften Bakterienaufschwemmung zu beweisen. Diese beimpften Nährböden kamen in den Brutschrank. Die Indolprüfung wurde in verschiedenen Zeitabständen vorgenommen, frühestens nach 3 Stunden, spätestens nach 72 Stunden.

Die Prüfung wurde für jeden Zeitabstand in 6 Röhrchen vorgenommen:

	Prüfung mit:
1. Versuchsröhrchen: Trypsinbouillon n. N. Pringsh.	Pringsh. Reagens.
2. Versuchsröhrchen: Trypsinbouillon n. N. Pringsh.	Kovács Reagens.
3. Versuchsröhrchen: Trypsinbouillon n. N. Pringsh.	Hoffmann Reagens.
4. Versuchsröhrchen: Hottinger-Stierhodenbrühe ..	Pringsh. Reagens.
5. Versuchsröhrchen: Hottinger-Stierhodenbrühe ..	Kovács Reagens.
6. Versuchsröhrchen: Hottinger-Stierhodenbrühe ..	Hoffmann Reagens.

Von dem Kovács'schen Reagens und dem von Hoffmann abgeänderten Kovács'schen Reagens wurde jedesmal 1 ccm ein-

gefüllt, von dem Reagens nach Pringsheim eine Menge von 15 Tropfen.

Die Stärke der Reaktion wurde durch folgende Zeichen ausgedrückt:

Kovács Reagens und Abänderung:		Pringsheim Reagens:
—	Verneinend	verneinend
?	fraglich	fraglich
+	schwach braunrot	blaß himbeerrot
++	rot bis braunrot	himbeerrot
+++	kräftig rot (granatrot)	kräftig himbeerrot.

Die zu den Versuchen benutzten indolbildenden Intermedius-, Koli- und Proteusstämme stammten aus dem Institut, teils aus der bakteriologischen Fleischuntersuchung, teils aus Kotproben von Meerschweinchen und Schweinen. Die benutzten Stämme der haemorrhagischen Septikaemie stellte das Institut für Veterinärhygiene der Universität Berlin, Direktor Professor Dr. Wagener, freundlichst zur Verfügung.

Die Zusammensetzung der einzelnen Reagentien zum Indolnachweis war folgende:

1. Reagens nach Pringsheim:
   Paradimethylamidobenzaldehyd 5,0 (Dr. Hollborn, Söhne, Leipzig)
   Methylalkohol 50,0
   Salzsäure 0,25% 40,0
2. Reagens nach Kovács:
   Paradimethylamidobenzaldehyd 5,0 (Dr. Hollborn, Söhne, Leipzig)
   Amylalkohol 75,0
   Salzsäure, spez. Gew. 1,16 25,0
3. Abänderung nach Hoffmann:
   wie bei Nr. 2 statt Amylalkohol Butanol (Merck).

Im Anschluß hieran sei auf einige Einzelheiten hingewiesen, die unter Umständen einen genauen und sicheren Indolnachweis gefährden können. Das von mir verwandte Paradimethylamidobenzaldehyd verleiht dem Reagens eine wasserklare Beschaffenheit mit einer ganz leicht grünlichen Eigenfarbe. Das Pulver hatte ein grauweißes, kristallinisches Aussehen. Es ist dem gleichen Präparat anderer Firmen, das eine braune bis braungelbe Eigenfarbe verursacht, vorzuziehen. Der Methyl- sowie der Amylalkohol und

das Butanol dürfen nur in völlig einwandfreiem, nicht zu altem Zustande verwendet werden. Die oben angeführte Konzentration der Salzsäuren habe ich als die beste befunden. Zu bemerken wäre noch, daß keines der Reagentien in ganz frischem Zustande verwendet werden darf, auf keinen Fall früher als 6 Stunden nach der Herstellung, worauf auch schon Hohn und Herrmann hinweisen.

Versuchsreihe B.

In einer zweiten Versuchsreihe sollte die Frage geprüft werden, ob die Indolbildung auch in Kohlehydrate-Stierhodennährböden mit Farbreagens festgestellt werden kann. Wie bei der Bespechung des Schrifttums schon erwähnt war, sind derartige Versuche mit einigen Kohlehydraten, insbesondere mit Traubenzucker und Milchzucker schon ausgeführt worden. Die Ergebnisse waren aber nur insofern einheitlich, als bei Traubenzucker eine Hemmung des Indolnachweises festgestellt wurde. Ueber die Hemmung bei Milchzucker und vor allem über die Frage, worauf diese merkwürdige Erscheinung zurückzuführen ist, konnte noch keine Klarheit erzielt werden. Es wurden in dieser Versuchsreihe daher sowohl die bereits bearbeiteten, als auch als weitere Kohlehydrate die bei der bunten Reihe im hiesigen Institut üblichen Kohlehydrate: Saccharose, Mannit, Arabinose, Dulzit, Rhamnose, Adonit und Salizin — mit Bromthymolblau als Farbindikator — in die Versuche einbezogen.

Zur Beimpfung wurden Proteusbakterien, Bakterien der haemorrhagischen Septikaemie und Intermediusstämme verwandt, die teils starkes, teils schwaches Indolbildungsvermögen in den Vorversuchen gezeigt hatten. Es war auch hier das Bestreben, sämtliche Versuchsröhrchen möglichst gleichmäßig zu beimpfen. Da die in den ersten Versuchen gehandhabte Beimpfung sich als gut erwiesen hatte, wurde sie auch in den folgenden wieder angewandt. Die beimpfte bunte Reihe kam 24 Stunden in den Brutschrank. Die Indolprüfung wurde pünktlich nach dieser Zeit mit je 1 ccm Kovács-Reagens in sämtlichen Röhrchen vorgenommen.

IV. Versuchsergebnisse.

Versuchsreihe A.

1. *Indolnachweis bei Intermediusstämmen.*

Es wurden zur Indolprüfung 64 Intermediusstämme verwandt, die bei dem hier üblichen Untersuchungsgange mit dem Prings-

heim-Reagens und der Neisser-Pringheimschen Trypsinbouillon nach 24 Stunden als indolbildend festgestellt waren, wenn auch in einigen Fällen ganz schwach. Die Indolbildung trat frühestens nach 5, spätestens nach 24 Stunden ein. Sie ist aber in beiden Nährböden nicht gleich, wie die Tabelle Nr. 1 zeigt. Aus der Uebersicht erkennt man, daß sich sowohl die Trypsinbouillon nach Neisser und Pringsheim mit dem Kovács-Reagens, als auch die Hottinger Stierhodenbrühe mit dem gleichen Reagens zum Indolnachweis sehr gut eignen. Das Reagens gibt in beiden Nährlösungen einen fast gleichzeitig auftretenden, scharf abgesetzten Ring, der auch nach längerer Zeit an Stärke nicht verliert. Das Pringsheimsche Reagens bleibt gegenüber dem Kovácsschen in beiden Nährböden sowohl an Schärfe als auch an Schnelligkeit zurück. Am deutlichsten zeigt sich dies wohl bei den Stämmen 312 und 1009. Bei dem ersten Stamm haben Neisser-Pringsheim-Nährboden mit Kovács-Reagens und Hottinger-Stierhodenbrühe mit Kovács-Reagens bereits nach 6 bezw. 7 Stunden eine Indolreaktion in voller Stärke, während sich die Indolreaktion bei Neisser-Pringsheim-Nährboden mit dem Pringsheim-Reagens erst nach 10 Stunden voll entwickelt. Bei dem Stamm 1009 liegen die Verhältnisse ähnlich. Auch hier ist bei dem Neisser-Pringsheim-Nährboden mit dem Pringsheim-Reagens eine sehr starke Reaktion erst nach 10 Stunden nachzuweisen, gegenüber 6 Stunden bei Neisser-Pringsheim-Nährboden mit Kovács und Hottinger-Stierhodenbrühe mit Kovács.

Ein noch stärkeres Zurückbleiben der Indolreaktion macht sich in der Hottinger-Stierhodenbrühe bei Anwendung des Pringsheim-Reagenses bemerkbar. Diese Reaktion ist derartig zeitlich unterlegen und undeutlich, daß nach 25 Versuchen diese Prüfungsreihe weggelassen werden konnte.

Die Abänderung des Kovács'schen Reagenses nach Hoffmann erreichte in 25 Versuchen nicht die Schnelligkeit, Genauigkeit und Sicherheit des Kovács-Ragenses.

Auf eine weitere Verwendung des Pringsheim-Reagenses in Hottinger-Stierhodenbrühe sowie der Hoffmannschen Abänderung wurde deshalb in den folgenden Versuchen verzichtet.

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20—24	36	48	72
807	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	—	++	++	+++	
	N. Pringsheim + Kovács .				—	—	+++	+++	+++	
	Hottinger + Kovács				—	—	++	+++	+++	
685	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	+	++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			—	++	+++	+++			
	Hottinger + Kovács			—	++	+++	+++			
832	N. Pringsheim + Pr. Reag.		++	+++	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	++	+++	+++					
	Hottinger + Kovács	—	+	+++	+++					
K26	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	+++						
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+++						
	Hottinger + Kovács	—	+	+++						
K34	N. Pringsheim + Pr. Reag.				+	+	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .				—	+	+++			
	Hottinger + Kovács				—	+	+++			
K37	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	+	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	++	+++					
	Hottinger + Kovács	—	++	++	+++					
K38	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	—	—	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			—	+	+	+++			
	Hottinger + Kovács			—	+	++	+++			
K39	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	?	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	+	+++					
	Hottinger + Kovács		?	+	+++					
K40	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	—	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .			—	—	+++				
	Hottinger + Kovács			—	+	+++				
989	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	—	++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			—	—	+	+++			
	Hottinger + Kovács			—	—	—	+++			

Intermedius.

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20	24	36	48	72
991	N. Pringsheim + Pr. Reag.			+	+ + +						
	N. Pringsheim + Kovács .			+	+ + +						
	Hottinger + Kovács			+	+ + +						
997	N. Pringsheim + Pr. Reag.				?	+ +	+ + +				
	N. Pringsheim + Kovács .				?	+ +	+ + +				
	Hottinger + Kovács				+	+ +	+ + +				
1002	N. Pringsheim + Pr. Reag.				-	?	+ + +				
	N. Pringsheim + Kovács .				+	+ +	+ + +				
	Hottinger + Kovács					?	+ + +				
1003	N. Pringsheim + Pr. Reag.				+	+ + +					
	N. Pringsheim + Kovács .				+ +	+ + +					
	Hottinger + Kovács				+	+ + +					
K41	N. Pringsheim + Pr. Reag.					+ + +					
	N. Pringsheim + Kovács .				-	+ + +					
	Hottinger + Kovács					+ + +					
K42	N. Pringsheim + Pr. Reag.				+	+ + +					
	N. Pringsheim + Kovács .				+ + +	+ + +					
	Hottinger + Kovács				+ + +	+ + +					
702	N. Pringsheim + Pr. Reag.				+ +	+ + +	+ + +				
	N. Pringsheim + Kovács .			?		+ + +	+ + +				
	Hottinger + Kovács				-	+ + +	+ + +				
781	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	—	+ +	+ + +				
	N. Pringsheim + Kovács .			—	—	+ + +	+ + +				
	Hottinger + Kovács			+	+ + +	+ + +	+ + +				
751	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	—	+ + +				
	N. Pringsheim + Kovács .					+	+ + +				
	Hottinger + Kovács				—	+	+ + +				
782	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	—	+ + +				
	N. Pringsheim + Kovács .				—	—	+ + +				
	Hottinger + Kovács				+	+ + +	+ + +				

Intermedius.

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20—24	36	48	72
767	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—		++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			—		+	+++			
	Hottinger + Kovács			—		+++	+++			
708	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—		+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—		+++					
	Hottinger + Kovács		—		+++					
683	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—		?		+++			
	N. Pringsheim + Kovács .		—		++		+++			
	Hottinger + Kovács		—		+++		+++			
697	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—		+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—		+++					
	Hottinger + Kovács		—		+++					
583	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	?	+		+	+++
	N. Pringsheim + Kovács .				—	++	++		+++	+++
	Hottinger + Kovács				—	?	+		+	+++
151	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	++	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+++	+++					
	Hottinger + Kovács	—	—	?	+++					
Schaf	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	+	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .			—	+++	+++				
	Hottinger + Kovács			—	+++	+++				
700	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	?	++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			—	++	+++	+++			
	Hottinger + Kovács			—	+++	+++	+++			
553	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	—	++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+	+++	+++				
	Hottinger + Kovács	--	—	--	+++	+++				
693	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	+	++		+++	
	N. Pringsheim + Kovács .				—	++	+++		+++	
	Hottinger + Kovács				—	—	++		+++	

Intermedius.

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20—24	36	48	72
781	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	+	++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	++	+++	+++				
	Hottinger + Kovács	—		+	+++	+++				
709	N. Pringsheim + Pr. Reag.	-				+++				
	N. Pringsheim + Kovács .	?				+++				
	Hottinger + Kovács	—				+++				
824	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .			—	+++	+++				
	Hottinger + Kovács			—	?	+++				
760	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .			++	+++					
	Hottinger + Kovács			++	+++					
798	N. Pringsheim + Pr. Reag.						?	+++		
	N. Pringsheim + Kovács .					-	+	+++		
	Hottinger + Kovács				—	—	—	+++		
490	N. Pringsheim + Pr. Reag.					+++				
	N. Pringsheim + Kovács .				—	+++				
	Hottinger + Kovács				—	+++				
494	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	+++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .					+++	+++			
	Hottinger + Kovács				-	++	+++			
794	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+	+++					
	Hottinger + Kovács	—	-	+++	+++					
806	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	++	++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+++	+++	+++				
	Hottinger + Kovács	—	-	+++	+++	+++				
544	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	?	+++				
	N Pringsheim + Kovács .			—	++	+++				
	Hottinger + Kovács			—	+	+++				

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20—24	36	48	72
814	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	—	+++					
	Hottinger + Kovács	—	—	+++	+++					
865	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	+	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+++	+++					
	Hottinger + Kovács	—	—	+++	+++					
837	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+	+++					
	Hottinger + Kovács	—	—	+++	+++					
855	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+	+++					
	Hottinger + Kovács	—	—	+++	+++					
862	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	?		+++				
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+++		+++				
	Hottinger + Kovács	—	—	+++		+++				
864	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	—		+	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	—		++	+++			
	Hottinger + Kovács	—	—	—		++	+++			
512	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	?	+	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		—	+++	+++	+++				
	Hottinger + Kovács		—	+++	+++	+++				
791	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	—	++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	+++	+++				
	Hottinger + Kovács	—		+++	+++	+++				
1004	N. Pringsheim + Pr. Reag.	+	+++	+++						
	N. Pringsheim + Kovács .	+	+++	+++						
	Hottinger + Kovács	+	+++	+++						
1005	N. Pringsheim + Pr. Reag.			..	—	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .			—	—	+++				
	Hottinger + Kovács			—	—	+++				

Intermedius.

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20–24	36	48	72
1010	N. Pringsheim + Pr. Reag.			–	?	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .			–	+	+++				
	Hottinger + Kovács			?	+	+++				
1009	N. Pringsheim + Pr. Reag.		–	+	+++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		–	+++	+++	+++				
	Hottinger + Kovács		—	+++	+++	+++				
1015	N. Pringsheim + Pr. Reag.	?	+	+++						
	N. Pringsheim + Kovács .	-	+	+++						
	Hottinger + Kovács		—	+++						
1016	N. Pringsheim + Pr. Reag.			–	–	+	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			–	—	++	+++			
	Hottinger + Kovács				?	++	+++			
1019	N. Pringsheim + Pr. Reag.			-	?	++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			+	+	+++	+++			
	Hottinger + Kovács		-	?	+	++	+++			
1000	N. Pringsheim + Pr. Reag.	-		+++						
	N. Pringsheim + Kovács .	–		+++						
	Hottinger + Kovács	–	-	+++						
K43	N. Pringsheim + Pr. Reag.			-	—	—	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			-	—	—	+++			
	Hottinger + Kovács			-	—	—	+++			
K44	N. Pringsheim + Pr. Reag.	?	++	+++						
	N. Pringsheim + Kovács .	–	+++	+++						
	Hottinger + Kovács		+++	+++						
K45	N. Pringsheim + Pr. Reag.		-	—	—	+	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	—	+	+++			
	Hottinger + Kovács		—	—	?	++	+++			
K46	N. Pringsheim + Pr. Reag.		-	?	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	+	+++					
	Hottinger + Kovács		—	?	+++					

Intermedius.

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20—24	36	48	72
K47	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	++	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	++	+++					
	Hottinger + Kovács		—	++	+++					
K48	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	+	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	++	+++				
	Hottinger + Kovács		—	?	+	+++				
K49	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	+++						
	N. Pringsheim + Kovács .		–	+++						
	Hottinger + Kovács		–	+++						
K50	N. Pringsheim + Pr. Reag.		–	+++						
	N. Pringsheim + Kovács .		–	+++						
	Hottinger + Kovács		—	+++						

2. Indolnachweis bei Kolibakterien.

Die Versuche wurden bei 32 Stämmen vorgenommen. Sie zeigten, wie aus der Tabelle 2 ersichtlich ist, eine klare und deutliche Indolbildung. Auch hier schwankte naturgemäß die Zeit bis zu der Indolbildung. Der Indolnachweis gelang beim frühesten Indolbildner nach einem Brutschrankaufenthalt von 3 Stunden, beim spätesten nach einem solchen von 20 Stunden. Die Uebersicht zeigt, daß die Indolreaktion bei den benutzten Kolistämmen ihre volle Stärke nach durchschnittlich 5—6 Stunden erreicht. Es sei auch hier das Indolbild einiger Stämme als Beispiel angeführt. Der Stamm 23, gezüchtet aus Schweinekot, zeigte z. B. nach 10 Stunden eine starke Indolreaktion im Neisser-Pringsheim-Nährboden mit Kovács-Reagens und ebenso in der Hottinger-Brühe mit Kovács-Reagens. Die gleichstarke Reaktion im Neisser-Pringsheim-Nährboden mit dem Pringsheim-Reagens ist dagegen erst nach 24 Stunden nachzuweisen. Bei dem Stamm 882, bei dem der Indolnachweis innerhalb 5—6 Stunden gelang, tritt die Verschiedenheit der Reagentien und Nährböden vielleicht noch krasser zu Tage. Gibt das Kovács-Reagens im Neisser-Pringsheim-Nährboden und Stierhodenbrühe schon nach 5 Stunden eine Reaktion in voller Stärke, so zeigt dieselbe Stärke das Pringsheim-Reagens in der Neisser-Pringsheim-Nährlösung erst nach 6 Stunden.

Koli.

Stamm	nach Stunden:	3	4	5	6	7	10	20—24	48	72
909	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	?	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	+	+++				
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	++	+++				
908	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	++	+++				
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	+++	+++				
K23	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	—		++	+++		
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	—		+++			
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	—		+++			
K24	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	+	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	?	+++					
K25	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	+	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	+++					
899	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	++	+++					
901	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	+++					
K27	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	+++					

Stamm	nach Stunden:	4	5	6	7	10	20	24	36	48	72
K28	N. Pringsheim + Pr. Reag.		+++	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .		+++	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács		+++	+++							
K29	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	++								
	N. Pringsheim + Kovács .	+	+++								
	Hottinger St. H. + Kovács	++	+++								
K30	N. Pringsheim + Pr. Reag.		+++	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .	+	+++	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács	-	++	+++							
960	N. Pringsheim + Pr. Reag.		++	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .		++	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács	-	++	+++							
961	N. Pringsheim + Pr. Reag.		++	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .		+++	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács		+	++							
964	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	++	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .	-	+++	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács	—	+++	+++							
965	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	+	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .		+	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács	—	++	+++							
966	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	+	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .	—	++	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács	—	—	++	+++						
K31	N. Pringsheim + Pr. Reag.	?	+++								
	N. Pringsheim + Kovács .	++	+++								
	Hottinger St. H. + Kovács	+	+++								
K32	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	++	+++							
	N. Pringsheim + Kovács .	—	++	+++							
	Hottinger St. H. + Kovács	—	++	+++							

Koli.

Stamm	nach Stunden:	3	4	5	6	7	20—24	48	72
K33	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	+++						
	N. Pringsheim + Kovács .	?	+++						
	Hottinger St. H. + Kovács	—	+++						
967	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	++	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .	—	+	++	+++				
	Hottinger St. H. + Kovács	—	?	++	+++				
968	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	?	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	+	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács	—	++	+++					
K35	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács	—	—	+++					
K36	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	—	—	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács	—	+	+++					
969	N. Pringsheim + Pr. Reag.	—	++	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .	+	++	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács	+	++	+++					

Koli.

Stamm	nach Stunden:	3	4	5	6	7	10	20—24	48	72
882	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	+	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	+++	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	+++	+++					
623	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	+++	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	+++	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	+++	+++					
708	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	++	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	+	+++					
K1	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	++	+++					
	N. Pringsheim + Kovács .		—	++	+++					
	Hottinger St. H. + Kovács		—	++	+++					
K2	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	+	+	+++		
	N. Pringsheim + Kovács .				—	+	++	+++		
	Hottinger St. H. + Kovács				—	—	?	+++		
K3	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	—	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	—	+++				
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	—	+++				
891	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	—	+++				
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	++	+++				
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	+++	+++				
894	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	?	+	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			—	+	++	+++			
	Hottinger St. H. + Kovács			—	—	++	+++			

3. *Indolnachweis bei Proteusbakterien.*

Zu den Versuchen wurden 9 indolbildende Stämme ausgesucht. Sie stammten teils aus älteren Fleischproben, teils aus beanstandetem Fleisch aus der Lebensmittelüberwachung und auch aus Kotproben. Das Wachstum der Bakterien auf Agarplatten zeigte das bekannte Bild der Schleierbildung. Beide Nährlösungen zeigten z. T. schon nach 7 Stunden eine gleichmäßige Trübung. Die Ueberlegenheit der Stierhodenbrühe mit Kovács-Reagens trat auch hier bei vereinzelten Stämmen in Erscheinung, doch ist im allgemeinen ein einheitliches, bei allen drei Nachweisverfahren ziemlich gleichstarkes Auftreten der Indolreaktion nach 10 Stunden festzustellen.

Stamm	nach Stunden:	5	6	7	8	9	10	12	18	24
S1	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—			+++			
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—			+++			
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—			++			+++
F2	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—			+++			
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—			+++			
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—			+++			
F3	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—			+++			
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—			+++			
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—			+++			
F4	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	?	++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	+	++	+++			
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	+	++	+++			
F5	N. Pringsheim + Pr. Reag.		—	—	—	—	++	+++		
	N. Pringsheim + Kovács .		—	—	—	+	++	+++		
	Hottinger St. H. + Kovács		—	—	—	++	+++			
F6	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	++	+++			
	N. Pringsheim + Kovács .				—	++	+++			
	Hottinger St. H. + Kovács				—	++	+++			
E7	N. Pringsheim + Pr. Reag.				—	—	++			+++
	N. Pringsheim + Kovács .				—	—	++			+++
	Hottinger St. H. + Kovács				—	?	++			+++
F8	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—	—		+++			
	N. Pringsheim + Kovács .			—	—		+++			
	Hottinger St. H. + Kovács			—	—		+++			
F9	N. Pringsheim + Pr. Reag.			—			—			+++
	N. Pringsheim + Kovács .			—			+			+++
	Hottinger St. H. + Kovács			—			+			+++

4. *Indolnachweis bei Bakterien der haemorrhagischen Septikaemie.*

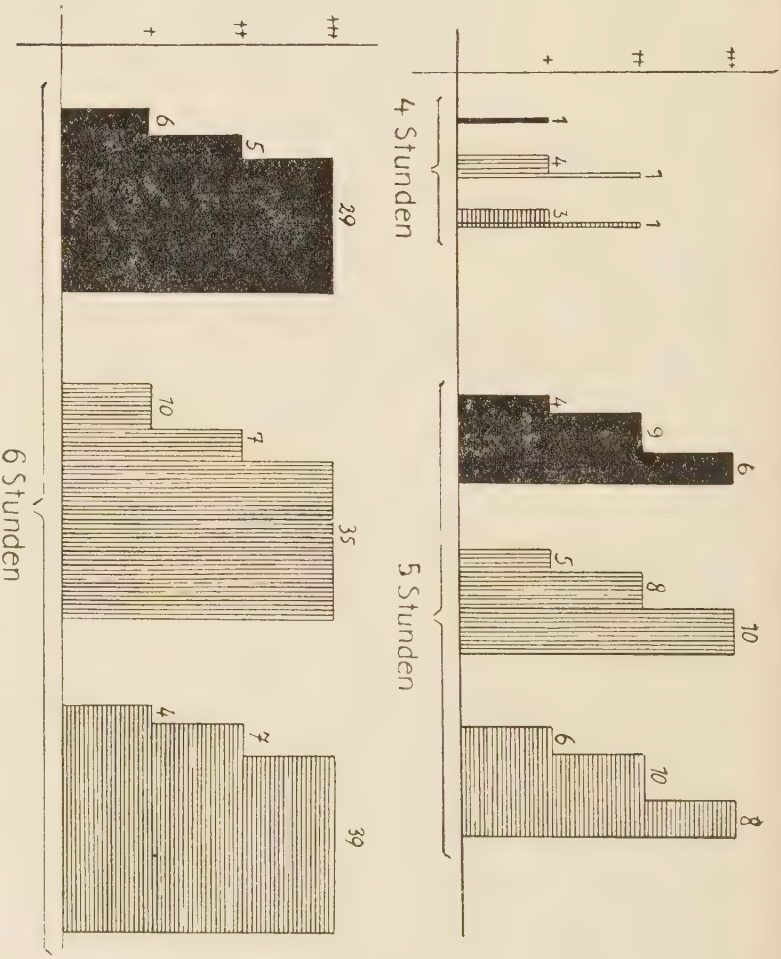
Angehörige der Gruppe der haemorrhagischen Septikaemie wurden gerade deshalb ausgewählt, weil bei ihnen die Indolbildung zum Teil nur schwach ist, zum Teil auch fehlen kann. Geprüft wurden 5 Arten der haemorrhagischen Septikaemie und zwar zwei Aviseptikus-Stämme, zwei Vituliseptikus-Stämme und ein Oviseptikus-Stamm.

Die im Schrifttum auseinandergehenden Angaben über die Indolbildung bei Bakterien der haemorrhagischen Septikaemie erklärt Hutyra (8), indem er schreibt: „die Indolbildung wird durch die zur Herstellung des Nährbodens verwendete Peptonart, sowie die Hydrogenionkonzentration des Nährbodens beeinflußt, und ferner durch die Anwesenheit von leicht vergärbarem Kohlehydrat, das von den Bakterien bei ihrer Fortpflanzung in erster Linie in Anspruch genommen wird, hintangehalten". Dies bestätigte auch Fazakas (9) und zeigte, daß die Indolreaktion mit Kulturen der haemorrhagischen Septikaemie in geeigneten Peptonarten positiv ausfällt. Neuerdings wird außerdem von Schirop, Laux, Frohböse u. a. über durchweg positive Indolreaktionen bei den verschiedenen Arten des Bakterium bipolare septicum berichtet.

In den vorgenommenen Versuchen war eine Indolbildung, wie auch aus der Tabelle 4 ersichtlich ist, bei sämtlichen vorhandenen Stämmen der haemorrhagischen Septikaemie nach 12stündigem Brutschrankaufenthalt mit allen drei Reaktionen sehr gut nachzuweisen.

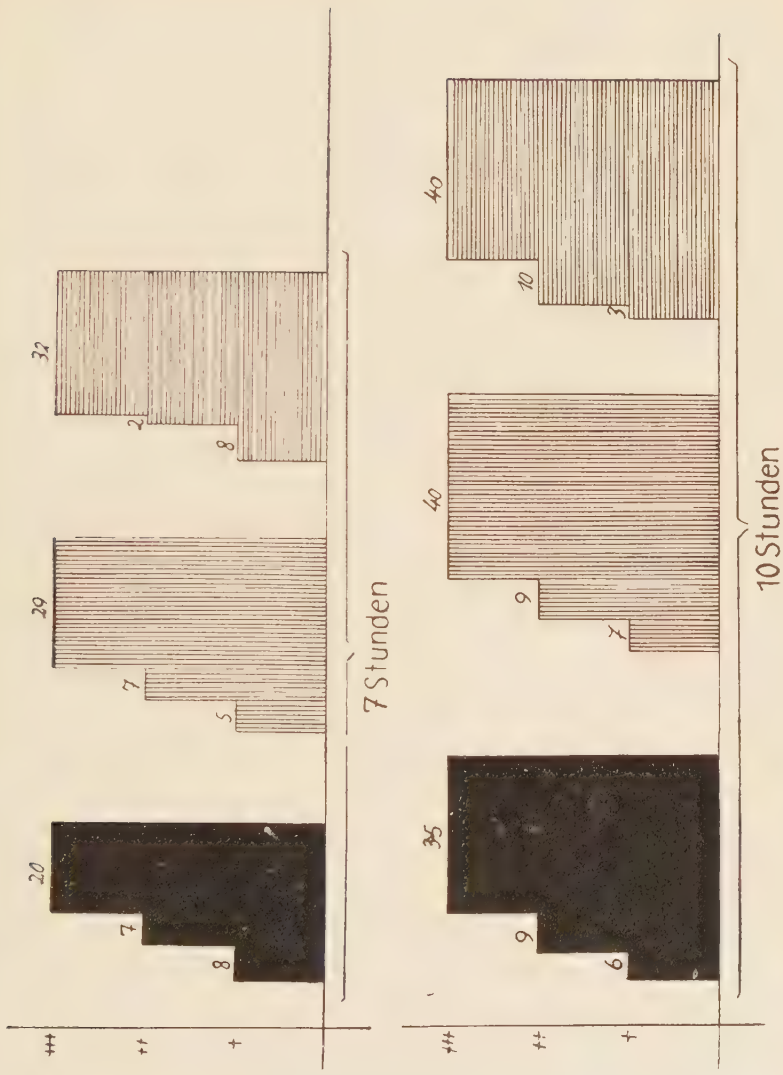
Stamm	nach Stunden:	6	7	10	12	18	24	48	72
176 avisept.	N. Pringsh. + Pr. Reag.		—	—	+++		+++		
	N. Pringsh. + Kovács .		—	—	+++		+++		
	Hottinger + Kovács .		—	—	+++		+++		
177 avisept.	N. Pringsh. + Pr. Reag.		—	—	+++		+++		
	N. Pringsh. + Kovács .		—	—	+++		+++		
	Hottinger + Kovács .		—	—	+++		+++		
178 vituli.	N. Pringsh. + Pr. Reag.		—	—	+++		+++		
	N. Pringsh. + Kovacs .			—	+++		+++		
	Hottinger + Kovács .		—	—	+++		+++		
179 vituli.	N. Pringsh. + Pr. Reag.		—	—	+++		+++		
	N. Pringsh. + Kovacs .		—	—	+++		+++		
	Hottinger + Kovács .		—	—	+++		+++		
180 ovisept.	N. Pringsh. + Pr. Reag.		—	—	+++		+++		
	N. Pringsh. + Kovács .		—	—	+++		+++		
	Hottinger + Kovács .		—	—	+++		+++		

In den nachstehenden Uebersichten ist die Stärke und das Eintreten der Indolreaktionen von sämtlichen geprüften Bakterienarten zusammengefaßt und graphisch dargestellt.



Die Zahlen bedeuten die Anzahl der Stämme, die nach der angegebenen Zeit in der angegebenen Stärke reagierten.

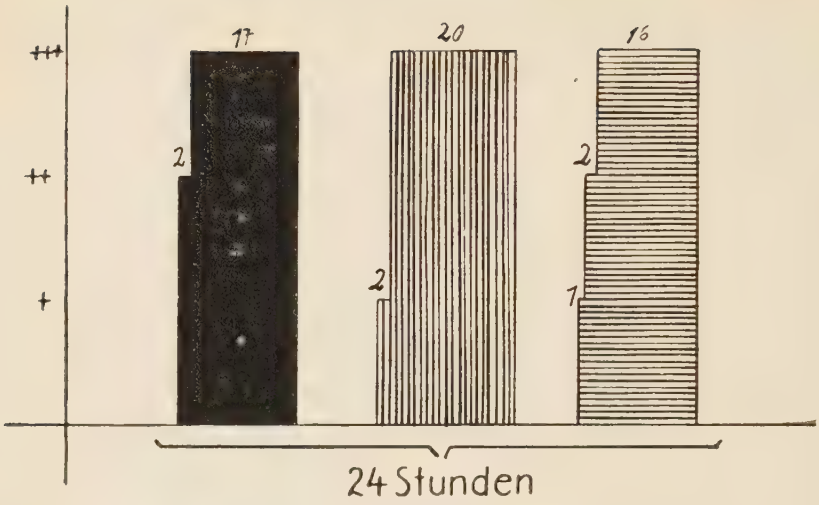
Neisser-Pringsheim mit Pringsheim
Neisser-Pringsheim mit Kovács
Hottinger-St. H. mit Kovács



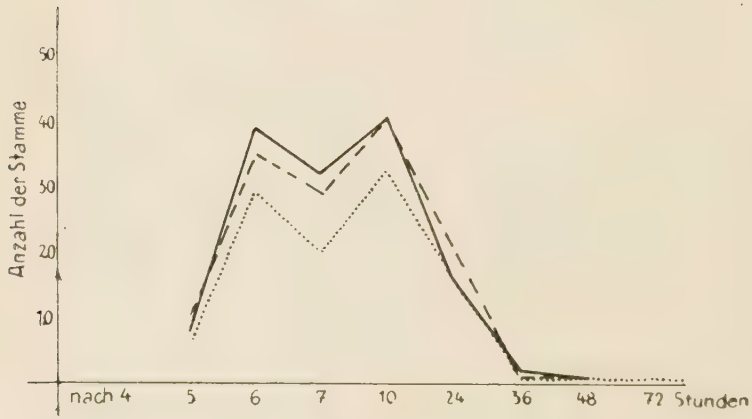
Neisser-Pringsheim mit Pringsheim

Neisser-Pringsheim mit Kovács

Hottinger-St. H. mit Kovács

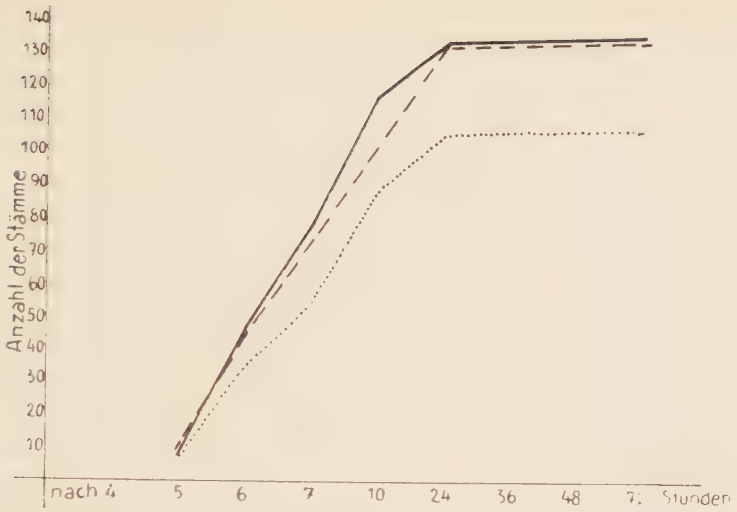


Neisser-Pringsheim mit Pringsheim
Neisser-Pringsheim mit Kovács
Hottinger-St. H. mit Kovács



Neisser-Pringsheim mit Pringsheim
Neisser-Pringsheim mit Kovács
Hottinger-St. H. mit Kovács

Zeit des frühestens Eintretens der Indolreaktion in voller Stärke.



.. Neisser-Pringsheim mit Pringsheim
-- Neisser-Pringsheim mit Kovács
— Hottinger-St. H. mit Kovács

Indolreaktion in voller Stärke. — In diesen Kurven sind bei jedem Zeitpunkt die bereits früher eingetretenen Reaktionen mitgezählt.

Versuchsreihe B.

Indolnachweis in Kohlehydrate-Stierhodennährböden.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Uebersicht zusammengefaßt. Die einzelnen Zuckerarten zeigten in bezug auf den Indolnachweis ein verschiedenes Verhalten. Am häufigsten hemmte der Traubenzucker, wie aus den Mitteilungen des Schrifttums zu erwarten war. Bemerkenswert ist aber die Feststellung, daß sich trotzdem in 4 von 52 Fällen in dem Traubenzuckerröhrchen einwandfrei Indol nachweisen ließ. Ein mehrmaliges Nachprüfen bestätigte diese im Schrifttum bisher nicht erwähnte Ausnahme. Der Traubenzucker war in diesen 4 Fällen, es handelte sich um 2 Arten des Bakterium Proteus und 2 Bakterienarten der haemorrhagischen Septikaemie (vituli- und ovisepticus), dreimal vergoren und bei dem bakt. ovisepticum nicht vollständig vergoren.

Man darf wohl annehmen, daß diese Erscheinung zweifellos auch auf die Verwendung der Hottinger-Stierhodenbrühe zurückzuführen ist; ist sie doch ein Nährboden, der durch Klarheit und geringe Eigenfarbe der Anwendung von Farbindikatoren beste Bedingungen schafft, und vor allen Dingen den Bakterien in jeder Beziehung die besten Wachstumsbedingungen bietet.

Eine zweite wichtige Feststellung bei diesen Versuchen war die: Im Dulzitröhrchen ließ sich in sämtlichen Prüfungen ein kräftiger Indolnachweis führen. Die Indolbildung übertraf sogar in mehreren Fällen, wie an Hand der Tabelle festzustellen ist, an Stärke die Reaktion des zuckerfreien Vergleichsröhrchens. Eine Dulzitvergärung war bei 31 v. H. der Versuche festzustellen. Sie war ohne Einfluß auf die Indolbildung. Im übrigen verhielten sich die einzelnen Zuckerarten folgendermaßen:

Traubenzucker:	indolbejahend	in 8% von 52 Fällen
	indolverneinend	in 92%
Arabinose:	indolbejahend	in 43%
	indolverneinend	in 57%
Mannit:	indolbejahend	in 69%
	fraglich	in 15%
	verneinend	in 16%
Saccharose:	indolbejahend	in 70%
	fraglich	in 15%
	verneinend	in 15%
Rhamnose:	indolbejahend	in 77%
	fraglich	in 10%
	verneinend	in 13%
Milchzucker:	indolbejahend	in 80%
	fraglich	in 5%
	verneinend	in 15%
Salizin:	indolbejahend	in 80%
	verneinend	in 20%
Adonit:	indolbejahend	in 93%
	verneinend	in 7%
Dulzit:	indolbejahend	in 100%

Stamm		Milchz.	Saech.	Man.	Traub.	Ind.	Arab	Dulz.	Rham.	Adon.	Salizyl
685	Vergärung	—	+	+	+	+	+	—	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+	—	—	—		++	++	?	—	—
760	Vergärung	—	+	+	+	+++	+	±	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	—	?	—		—	+++	+++	++	+++
709	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	±	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	—	—		—	+++	++	++	+++
697	Vergärung	—	±	+	+	+++	+	—	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	+++
700	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		++	+++	++	+	+++
798	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	+	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	—	—		+++	+++	?	+++	+++
824	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+	+++
852	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	++	—
702	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	—	—	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	—
806	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	+	+	+	±
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	++	—		+++	+++	+++	+++	+++
807	Vergärung	—	+	+	+	++	—	—	—	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	++	—	—	—		—	+++	?	++	++
814	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	+++
857	Vergärung	—	—	+	+	+++	±	+	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	+++

Stamm		Milchz.	Sacch.	Man.	Traub.	Ind.	Arab.	Dulz.	Rham.	Adon.	Salizyl
865	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	+	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	+++
864	Vergärung	—	+	+	+	++	+	—	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	++	—	—	—		++	+	?	+	+
891	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	±	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	++	+++	+	—		—	+++	—	+++	+++
894	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	+++	?	—		—	+++	+++	+++	+++
Prot. 1	Vergärung	—	—	+	+	+++	±	—	—	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	++	+		—	+++	+++	+++	—
Prot. 2	Vergärung	±	+	+	+	+++	+	±	±	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	++	—	+		—	+++	+++	+++	—
Prot. 3	Vergärung	—	+	+	+	+++	+	—	+	+	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	++	+++	—		+++	+++	+++	+++	++
781	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	+	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	++
176	Vergärung	—	+	+	—	+++	—	—	—	—	—
avisept.	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	++	+++	—		—	+++	—	+++	+++
177	Vergärung	—	+	—	—	+++	—	—	—	—	—
ovisept.	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	—	?	—		—	+++	—	+++	+++
178	Vergärung	—	+	+	—	+++	—	—	—	—	—
vituli	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	++	+++	—		—	+++	++	+++	+++
179	Vergärung	—	+	+	±	+++	—	—	—	—	—
vituli	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	++	+++	++		—	+++	+++	+++	+++
180	Vergärung	—	+	+	+	+++	—	—	—	—	—
ovisept.	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	+++		—	+++	+++	+++	+++

Stamm		Milchz.	Sacch.	Man.	Traub.	Ind.	Arab.	Dulz.	Rham.	Adon.	Salizyl
782	Vergärung	—	—	±	+	+++	±	—	—	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	—	?	—		—	+++	+++	+++	+++
767	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	+	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	+++
862	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	++	+++
1004	Vergärung	—	+	+	+	++	+	—	—	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+	—	—	—		—	++	+	+	+
1005	Vergärung	—	+	+	+	+++	—	—	—	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		++	+++	++	+++	+++
1010	Vergärung	—	+	+	+	+++	—	+	—	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	++	—	—		++	+++	+++	+++	+++
1009	Vergärung	—	—	+	+	+++	—	—	+	±	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	—	+++	—		—	+++	+++	+++	+++
1015	Vergärung	—	+	+	+	+++	+	+	—	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	—	—		+++	+++	++	++	++
1016	Vergärung	—	—	+	+	—	+	+	—	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	—	—	—		—	—	—	—	—
1014	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	+	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+	++	+++
1000	Vergärung	—	—	+	+	+++	—	+	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	—	+++	—		—	+++	+++	+++	—
45	Vergärung	—	+	+	+	+++	—	—	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	+++	—	—		—	+++	++	+++	+++
48	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	—	+++	—		+++	+++	+	++	++

Indolnachweis in Kohlehydrate-Stierhodennährböden.

Stamm		Milchz.	Sacch.	Man.	Traub.	Ind.	Arab.	Dulz.	Rham.	Adon.	Salizyl
751	Vergärung	—	+	+	+	—	+	—	+	±	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	—	—	—		—	—	—	—	—
695	Vergärung	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+	—	—	—		—	+	—	—	—
533	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	±	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	+++
683	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	+	—	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	—	—		—	+++	+++	++	—
791	Vergärung	—	+	+	+	+++	+	+	—	+	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	?	—	—	—		—	+++	+++	+++	+++
Schaf	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	+	+	+	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	+	+++	—	—		—	+++	+++	++	++
960	Vergärung	—	+	+	+	+++	+	+	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	+++	—	—		—	+++	++	+++	+++
961	Vergärung	—	+	+	+	+++	+	+	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	+++	?	—		—	+++	+	+++	+++
964	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	±	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	?	+++	—	—		—	+++	—	+++	+++
967	Vergärung	—	+	+	+	+++	+	±	+	—	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	—	—	—	—		—	+++	+	+++	+++
708	Vergärung	—	—	+	+	+++	+	—	+	+	—
	Indolprüfung n. 24 Std.	+++	+++	+++	—		+++	+++	+++	+++	+++
583	Vergärung	±	—	+	+	+++	+	—	+	—	+
	Indolprüfung n. 24 Std.	++	+++	?	—		—	+++	+++	++	++

V. Schlußsätze.

1. Hottinger-Stierhodenbrühe mit dem Kovács-Reagens stand an Schnelligkeit, Sicherheit und Genauigkeit dem Neisser--Pringsheimschen Nährboden mit dem Kovács-Reagens bei dem Indolnachweis nicht nach, in manchen Fällen war sogar eine geringe Ueberlegenheit festzustellen. Diese beiden Verfahren haben sich in den Versuchen als die besten zum Indolnachweis erwiesen.
2. Neisser-Pringsheim-Nährboden mit Pringsheim-Reagens erreichte an Schnelligkeit und Sicherheit die unter 1 genannten Nachweisverfahren nur in 60 v. H. der Fälle, während die Reaktion in den übrigen 40 v. H. an Stärke zurücktrat.
3. Hottinger-Stierhodenbrühe mit dem Pringsheim-Reagens hatte unbefriedigende Ergebnisse.
4. Fehler in der Indolreaktion können an der Verwendung zu alten Alkohols liegen.
5. Das Indol-Reagens darf nicht vor 6 Stunden nach seiner Herstellung verwandt werden.
6. Bei dem zum Indolnachweis verwandten Paradimethylamidobenzaldehyd ist darauf zu achten, daß es nicht wegen zu starker Eigenfarbe — einige Präparate zeigten gelbbraune Farbe — die Farbe des Indolringes beeinflußt. In den Versuchen wurde das von der Firma Hollborn, Leipzig, hergestellte Paradimethylamidobenzaldehyd verwandt.
7. Die Abänderung des Kovács'schen Reagenses nach Hoffmann, der Butanol statt Amylalkohol nimmt, ist zwar billiger und angenehmer in der Anwendung (kein stechender Geruch), zeigte aber nicht die deutliche Reaktion und das schnelle Auftreten derselben, wie das ursprüngliche Kovács-Reagens.
8. Die in den Versuchen benutzten Stämme der haemorrhagischen Septikaemie waren sämtlich indolbildend.

9. Die Störung des Indolnachweises in Zuckernährböden beruht nicht darauf, daß nur spaltbare Zuckerarten stören, wie Neisser und Frieber (13) glauben, sondern liegt an der Zuckerart. Bei verschiedenen Zuckerarten trat manchmal eine Störung des Indolnachweises ein, manchmal nicht, unabhängig jedoch von der Vergärung der betreffenden Kohlehydrate. Selbst bei Traubenzucker wurde in 4 von 52 Fällen keine Hemmung der Indolbildung festgestellt (bei Verwendung von Hottinger-Stierhodenbrühe!).
10. Im Dulzitnährboden wurde niemals eine Störung des Indolnachweises festgestellt. Falls diese Beobachtung sich bei weiteren Versuchen allgemein bestätigen sollte, könnte ein besonderes Indolprüfungsröhrchen in der bunten Reihe eingespart und das Dulzitröhrchen zur Indolreaktion verwendet werden.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir angenehmste Pflicht, Herrn Professor Dr. Standfuß für die freundliche Ueberlassung des Themas, die zahlreichen Anregungen und mannigfaltige Unterstützung ergebenst zu danken.

Meinen herzlichen Dank auch dem Assistenten des Instituts, Herrn Dr. Koch, der mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

VI. Schrifttumverzeichnis.

1. Ehrlich, P.: Ueber die Dimethylamidobenzaldehydreaktion. Med. Wochenschrift 434. 1901.
2. Elkeles, G. und Standfuß, R.: Die Paratyphosen in Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Handbuch der path. Mikroorganismen. Bd. III 1610. 1929.
3. Glenn, T.: Variation and Carbohydrate metabolism of bacilli of the Proteus group. Zbl. f. Bakt. 58, 488. 1911.
4. Gotschlich, E.: Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen. In Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Bd. I, 155, 1929.
5. Herrmann, W.: Ein gasloser Breslaustamm aus Faeces und ein Pullorumstamm aus Kartoffelsalat. Zugleich ein Beitrag zur Frage des Gärprozesses bei pathogenen Darmbakterien und ihrer Differenzierung. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 132, 148. 1934.
6. Hoffmann, O.: Vergleichende Untersuchungen über den Indolnachweis. Diss. Gießen 1931.
7. Hohn, J. und Herrmann, H.: Der Kulturtyp der Erreger der Typhus-Paratyphus-Gruppe und seine Bedeutung für die Standortgebundenheit. Zeitschr. f. Hygiene und Infekt. 117, 725. 1936.
8. v. Hutyra, F.: Septicaemia Haemorrhagica. In Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Bd. VI, 490. 1929.
9. Fazakas, N.: Durch welche Faktoren wird das Indolbildungsvermögen des Geflügelcholerabacillus bedingt? Iber. d. Vet. Med. Jg. 46, II. Hälfte, S. 997.
10. Kovács, N.: Eine vereinfachte Methode zum Nachweis der Indolbildung durch Bakterien. Zeitschr. f. Immun. Forsch. 55, 311. 1928.
11. Kruse, W.: Allgemeine Mikrobiologie. S. 511. 1910.
12. Lehr, E.: Zur Brauchbarkeit des Indolnachweises nach Kovács. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 108, 209. 1928.
13. Neißer, M. und Frieber, W.: Indol- und Phenolbildung durch Bakterien. In Kraus und Uhlenhuth, Handbuch der mikrobiologischen Technik. Bd. II, 1245. 1923.
14. Nißle, A.: Die Kolibakterien und ihre pathogene Bedeutung. In Kolle, Kraus Uhlenhuth, Bd. VI, 422. 1929.
15. Porcher und Panisset: Zitiert nach Neißer und Frieber in Kraus, Uhlenhuth, Handb. d. mikrobiol. Technik, Bd. II, 1245.
16. Rolle, M.: Das Bakterium bipolare. D.T.W. Nr. 52. 1928.
17. Spitta, O.: Die bakteriologische Untersuchung des Wassers und des Abwassers. In Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Bd. X, 519. 1929.
18. Standfuß, R. und Lehr, E.: Zur Erkennung und Unterscheidung der Keime der Paratyphus-Enteritis-Gruppe. B.T.W. 33, 536. 1928.
19. Thoemke, G.: Zur Brauchbarkeit des Indolnachweises von Kovács. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 113, 520. 1929.

Lebenslauf.

Am 13. November 1910 wurde ich, Erich Hans Wernet, als Sohn des Lehrers Michael Wernet und seiner Ehefrau Barbara geb. Rupp zu Völklingen (Saar) geboren. Nach vier Volksschuljahren besuchte ich das Reform-Realgymnasium zu Völklingen, wo ich im März 1931 die Reifeprüfung bestand. Vom Sommersemester 1931 an widmete ich mich dem Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover und der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Berlin. Die tierärztliche Fachprüfung legte ich im Wintersemester 1936/37 in Berlin ab. Anschließend unterzog ich mich der vorgeschriebenen dreimonatigen Schlachthoftätigkeit am Schlachthof zu Saarbrücken und erhielt daraufhin am 5. März 1937 meine Bestallung als Tierarzt. Ich war dann vertretungsweise in der Praxis tätig. Seit dem 1. November 1937 bin ich an dem Institut für tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Universität Gießen, wo ich an einem bakteriologischen Fleischbeschaukursus teilnahm und meine Dissertation anfertigte.